

## بررسی پلی مورفیسم تکرارهای T در افراد سالم و بیماران فیبروز کیستی در استان مازندران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۰۸/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۱۱/۰۳

### چکیده

**زمینه و هدف:** فیبروز کیستی یک بیماری اتوزومال مغلوب شایع در میان سفیدپوستان است و منجر به اختلال در عملکرد غدد برون ریز می شود که ناشی از جهش در ژن پروتیین تنظیم کننده کانال عبور غشایی فیبروز کیستی (CFTR) است. علائم فنوتیپی در این بیماری بسیار متنوع و نتیجه طیف وسیع جهش ها در ژن CFTR است. این تحقیق به بررسی پلی مورفیسم تکرارهای پلی تیمین (T<sub>9</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>5</sub>) در اینترون هشت ژن CFTR در افراد سالم و مبتلا در استان مازندران پرداخته است. **روش بررسی:** ۴۰ کودک مبتلا به فیبروز کیستی و ۴۰ فرد سالم ساکن استان مازندران برای پلی مورفیسم پلی تیمین در اینترون هشت ژن CFTR با استفاده از روش Reverse dot blot بررسی شدند. **یافته ها:** تکرار T<sub>7</sub> در افراد سالم و مبتلا شایع ترین و فراوانی آلی آن حدود ۷۵٪ است. فراوانی آلی تکرارهای T<sub>9</sub> و T<sub>5</sub> به ترتیب حدود ۲۰٪ و ۵٪ می باشد. ژنوتیپ های T<sub>7</sub>/T<sub>7</sub> در هر دو گروه شایع ترین و به ترتیب از فراوانی ۷۲/۵٪ و ۶۰٪ در افراد سالم و بیمار برخوردارند. ژنوتیپ های T<sub>5</sub>/T<sub>5</sub> و T<sub>5</sub>/T<sub>9</sub> در این مطالعه مشاهده نشدند. ۲۲/۵٪ افراد سالم و ۳۰٪ افراد بیمار ژنوتیپ هتروزیگوت داشتند. **نتیجه گیری:** با توجه به فراوانی آلل های T<sub>5</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>9</sub> و وجود ۲۲/۵٪ الی ۳۰٪ درصد ژنوتیپ هتروزیگوت در افراد بررسی شده، پلی مورفیسم تکرارهای T در اینترون هشت می تواند به عنوان مارکر برای ردیابی آلل های سالم و جهش یافته در تشخیص پیش از تولد یا شناسایی ناقلین با سابقه بیماری در خانواده استفاده شود.

**کلمات کلیدی:** پلی مورفیسم، فیبروز کیستی، Reverse Dot Blot، CFTR.

هاله اخوان نیایی<sup>۱\*</sup>، رضا طبری پور<sup>۲</sup>  
محمد رضا اسمعیلی دوکی<sup>۳</sup>  
ماندانا عزیز ی<sup>۴</sup>، جواد توکلی بزاز<sup>۵</sup>  
باقر لاریجانی<sup>۶</sup>

۱- مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی بابل  
۲- دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران  
۳- مرکز تحقیقات بیماری های غیر واگیر اطفال، دانشگاه علوم پزشکی بابل  
۴- آزمایشگاه ژنتیک، بیمارستان کودکان امیرکلا  
۵- گروه ژنتیک دانشگاه علوم پزشکی تهران  
۶- مرکز تحقیقات غدد درون ریز دانشگاه علوم پزشکی تهران

\* نویسنده مسئول: بابل، خیابان گنج افروز، دانشگاه علوم پزشکی بابل، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و ملکولی  
تلفن: ۰۱۱۱-۲۳۳۶۵۰  
email: halehakhavan@yahoo.com

### مقدمه

انتقال وزیکول های درون سلولی و ممانعت از فعالیت کانال های کلرید وابسته به کلسیم را می توان اشاره کرد.<sup>۱-۳</sup> تشخیص بیماری CF به طور معمول با استفاده از علائم بالینی و غلظت بالای کلرید عرق انجام می شود. اختلال در سطوح اپی تلیال به عنوان عارضه غالب این بیماری است،<sup>۱</sup> که در نتیجه آن انتقال الکترولیت ها، آب و دیگر محلول ها از خلال غشای سلول دچار نقص شده و منجر به ایجاد علائم بالینی متعددی می شود که از میان آن ها می توان به عفونت های مزمن ریوی، نارسایی اگزوکراین پانکراس، ناباروری در مردان و افزایش غلظت کلرید در عرق اشاره کرد. بیش از ۱۸۰۰ جهش یا پلی مورفیسم در ژن CFTR شناسایی شد (CF Genetic Analysis Consortium <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). مطالعات فراوانی این جهش ها تفاوت های زیادی را بر اساس منشا نژادی و جغرافیایی بیماران نشان می دهد. شایع ترین جهش ΔF508 است که

فیبروز کیستی Cystic Fibrosis (CF) شایع ترین اختلال اتوزومال مغلوب در سفیدپوستان است که به دلیل جهش در ژن پروتیین تنظیم کننده عبور غشایی فیبروز کیستی (CFTR) که یک کانال کلر را کد می کند، ایجاد می شود.<sup>۱-۳</sup> این ژن بر روی لوکوس واحدی در بازوی بلند کروموزوم هفت قرار دارد، که اندازه آن تقریباً ۲۳۰Kb است و از ۲۷ اگزون تشکیل شده است و پروتیینی با ۱۴۸۰ اسید آمینه را کد می کند.<sup>۴،۵</sup> پروتیین CFTR در انواع متعددی از سلول ها نظیر سلول های اپی تلیال ریه ها، غدد تولید کننده موکوس، پانکراس، کبد، غدد عرق و دستگاه تناسلی یافت می شود. اگرچه CFTR عمدتاً به عنوان کانال کلرید عمل می کند، اما نقش های تنظیمی متعددی دارد که به برخی از آن ها نظیر ممانعت از عمل انتقال سدیم از طریق کانال های سدیمی سلول های اپی تلیال، تنظیم کانال های ATP،<sup>۶،۷</sup> تنظیم

تعیین نوع تکرارهای تیمین با استفاده از Reverse Dot Blot: روش Reverse Dot Blot (RDB) از روش‌های مهم، سریع، دقیق و غیر رادیواکتیو است که در تعیین جهش‌های شناخته شده در انسان به کار می‌رود. اصول و جزئیات این روش توسط Chehab توصیف شده است.<sup>۲۲</sup> در این روش محصولات PCR بیوتینیل‌ه جهت دورگه‌گیری (Hybridization) با پروب‌های مخصوص توالی‌هایی با تکرارهای T<sub>9</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>5</sub> که بر روی نوارهای Biotin C قرار داده شده‌اند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (توالی پروب‌ها در جدول ۱). پس از دو رگه‌گیری، آنزیم پراکسیداز متصل شده به استرپتوآیدین را به واکنش اضافه کرده و در صورتی که اسید نوکلئیک با پروب مربوطه هیبرید شده باشد، واکنش شیمیایی رنگ‌زا در حضور تترامیتیل بنزیدین و آب اکسیژنه اجازه رویت لکه‌های آبی‌رنگ و در نتیجه تشخیص چگونگی دورگه‌گیری محصول PCR با هر یک از پروب‌ها را خواهد داد.

### یافته‌ها

در این مطالعه ۴۰ فرد بیمار (۸۰ آلل) و ۴۰ فرد سالم (۸۰ آلل) برای پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین در اینترون هشت ژن CFTR بررسی شدند و ژنوتیپ افراد سالم و بیمار برای توالی‌های تکرارهای تیمین پس از انجام واکنش PCR و Reverse Dot Blot مشخص شد. شکل ۱ نتیجه واکنش PCR و شکل ۲ نتیجه واکنش RDB را نشان می‌دهد. جدول ۲ فراوانی هر یک از آلل‌ها را در افراد سالم و افراد مبتلا به CF نشان می‌دهد. تکرارهای T<sub>7</sub> بیشترین فراوانی را نشان می‌دهد و به ترتیب ۷۵/۸۳٪ و ۷۵/۷۵٪ آلل‌های افراد سالم و بیمار را شامل می‌شود. تکرارهای T<sub>5</sub> کمترین فراوانی را دارد و به ترتیب ۶/۲۵٪ و ۵/۵٪ آلل‌های افراد سالم و بیمار را شامل می‌شود. جدول ۳ فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف را نشان می‌دهد. ژنوتیپ هموزیگوت T<sub>7</sub>/T<sub>7</sub> در هر دو گروه شایع‌ترین ژنوتیپ است و به ترتیب ۷۲/۵٪ و ۶۰٪ افراد سالم و بیمار را تشکیل می‌دهد. در افراد سالم ۲۲/۵٪ ژنوتیپ‌ها هتروزیگوت (T<sub>7</sub>/T<sub>5</sub> یا T<sub>7</sub>/T<sub>9</sub>) و در افراد بیمار ۳۰٪ ژنوتیپ‌ها هتروزیگوت (T<sub>7</sub>/T<sub>5</sub>)

جدول ۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمرها و پروب‌های مورد استفاده

Primers	Forward	Reverse
	5'- CATAAAACAAGCATCTATTGAAAAT -3'	3'- CACTACACCCATACATTCTCTCT -3'
	5'- GGTGTGTTTAAAAACAGG -3'	3'- TGTGTGTTTAAAAACAGG -3'
Probes	IVS8-5T	IVS8-7T
	5'- TGTGTGTTTAAAAACAG -3'	5'- TGTGTGTTTAAAAACAG -3'

حدود ۷۰٪ از جهش‌ها را در جمعیت سفیدپوست تشکیل می‌دهد اما فراوانی آن در جمعیت‌های عربی،<sup>۱۳</sup> هندی،<sup>۱۴</sup> ایرانی<sup>۱۵</sup> و ترکی<sup>۱۶</sup> بین ۴۴٪ تا ۱۳٪ متغیر است. یکی از پلی‌مورفیسم‌هایی که در ژن CFTR وجود دارد، پلی‌مورفیسم poly T است. بررسی‌های ملکولی نشان داده که یک لوکوس پلی‌مورفیک polyT در انتهای ۳' اینترون هشت ژن CFTR است که در پردازش صحیح آگزون ۹ نقش مهمی دارد.<sup>۱۷</sup> سه آلل در این لوکوس گزارش شده که شامل تکرارهای T<sub>9</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>5</sub> می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده که در افراد بیمار تکرارهای T<sub>5</sub> در پردازش نادرست آگزون ۹ دخالت دارد.<sup>۱۷</sup> با توجه به این که تکرارهای T<sub>5</sub> نه تنها در افراد بیمار، بلکه در افراد سالم نیز وجود دارد می‌توان گفت که این جهش نفوذ ناقص دارد و احتمالاً وجود جهش یا پلی‌مورفیسم‌های دیگر به‌طور همزمان می‌تواند به همراه تکرارهای T در پردازش آگزون ۹ دخالت داشته باشند.<sup>۱۷</sup> مطالعات مربوط به این پلی‌مورفیسم عمده‌تاً در مردان نازای مبتلا به CF انجام شده است.<sup>۱۸-۲۰</sup> این تحقیق به بررسی پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین (T<sub>9</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>5</sub>) در اینترون هشت ژن CFTR در افراد سالم و کودکان مبتلا به CF در استان مازندران با استفاده از روش Reverse Dot Blot پرداخته است.

### روش بررسی

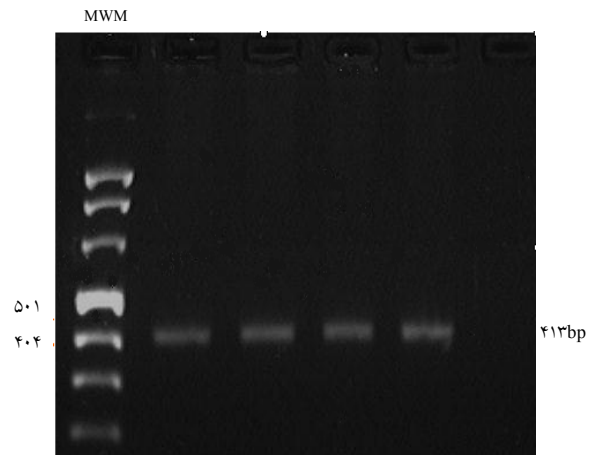
در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، ۴۰ فرد سالم و ۴۰ کودک یک‌ماهه تا ۱۲ ساله اهل مازندران که براساس علایم بالینی و یا تست عرق مبتلا به فیبروز کیستی تشخیص داده شده و در سال‌های ۱۳۸۶ و ۱۳۸۷ به آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان کودکان امیرکلا وابسته به دانشگاه علوم پزشکی بابل ارجاع شده بودند، پس از اخذ موافقت کتبی، بررسی شدند. استخراج DNA: بعد از جمع‌آوری نمونه خون محیطی افراد سالم و مبتلا، به روش Alkaline Lysis استخراج گردید.<sup>۲۱</sup> تکثیر DNA به روش PCR: توالی مربوطه که در انتهای اینترون هشت قرار دارد با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به کمک ترموسایکلر techgene (کمپانی انگلستان) تکثیر شد. تکثیر قطعه مورد نظر در حجم ۵۰ μl با حضور ۲۰۰ μM dNTPs، ۱/۵ mM MgCl<sub>2</sub>، ۲۰۰ nM Taq DNA Polymerase واحد ۱/۵ بیوتینیل‌ه، شرایط تکثیر DNA در ترموسایکلر ۹۴°C سه دقیقه، سپس ۳۰ بار در ۹۴°C یک دقیقه، ۵۸°C یک دقیقه، ۷۲°C ۴۵ ثانیه و نهایتاً ۷۲°C پنج دقیقه بود.

جدول ۲- فراوانی آلل های T<sub>9</sub> و T<sub>7</sub> و T<sub>5</sub> در افراد سالم و بیمار

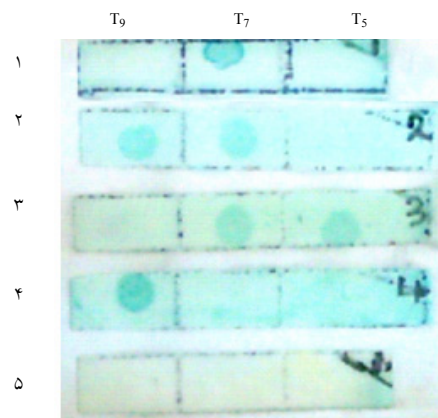
نوع آللی	فراوانی آللها در افراد سالم (درصد)	فراوانی آللها در افراد بیمار (درصد)
T <sub>7</sub>	۸۳/۷۵	۷۵
T <sub>9</sub>	۱۰	۲۰
T <sub>5</sub>	۶/۲۵	۵

جدول ۳- فراوانی ژنوتیپ های مختلف در افراد سالم و بیمار

ژنوتیپ	T <sub>7</sub> /T <sub>7</sub>	T <sub>7</sub> /T <sub>9</sub>	T <sub>7</sub> /T <sub>5</sub>	T <sub>9</sub> /T <sub>9</sub>
افراد سالم	٪۷۲/۵	٪۱۰	٪۱۲/۵	٪۵
افراد بیمار	٪۶۰	٪۲۰	٪۱۰	٪۱۰



شکل ۱- نتیجه واکنش PCR



شکل ۲- نتیجه واکنش Reverse Dot Blot ردیف های ۱، ۲، ۳ و ۴ نتیجه واکنش Reverse Dot Blot را به ترتیب برای افرادی با ژنوتیپ T<sub>7</sub>/T<sub>7</sub>، T<sub>7</sub>/T<sub>9</sub>، T<sub>7</sub>/T<sub>5</sub> و T<sub>9</sub>/T<sub>9</sub> نشان می دهد. ردیف ۵ نشان دهنده کنترل منفی (بدون محصول PCR) است.

یا (T<sub>7</sub>/T<sub>9</sub>) بودند. سایر ژنوتیپ ها مانند T<sub>5</sub>/T<sub>9</sub> و T<sub>5</sub>/T<sub>5</sub> در جمعیت مورد مطالعه یافت نشدند. قطعه DNA به طول ۴۱۳ جفت باز حاوی تکرارهای تیمین در اینترون هشت ژن CFTR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد. اندازه قطعه توسط نشانگر ملکولی از شرکت Roche در ستون چپ تایید شده است.

## بحث

۴۰ فرد سالم و ۴۰ فرد مبتلا به بیماری سیستمیک فایبروزیس ساکن استان مازندران برای پلی مورفیسم تکرارهای تیمین که در اینترون هشت ژن CFTR قرار دارد با استفاده از روش Reverse Dot Blot بررسی شدند. سه آلل در این لوکوس با تکرارهای تیمین ۵، ۷ و ۹

(T<sub>9</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>5</sub>) وجود دارد که تعداد تکرارها بر پردازش آگرون ۹ mRNA ژن CFTR تاثیر می گذارد. در این بررسی مشخص شده که آلل T<sub>7</sub> بیشترین فراوانی را در افراد سالم و بیمار (به ترتیب ۸۳/۷۵ و ۷۵٪) دارد و آلل T<sub>5</sub> کمترین فراوانی را در افراد سالم و بیمار (به ترتیب ۶/۲۵٪ و ۵٪) نشان می دهد. همچنین چهار ژنوتیپ T<sub>7</sub>/T<sub>5</sub>، T<sub>7</sub>/T<sub>7</sub>، T<sub>7</sub>/T<sub>9</sub> و T<sub>9</sub>/T<sub>9</sub> با فراوانی های متفاوت در افراد سالم و بیمار یافت شد که از این میان ژنوتیپ هموزیگوت T<sub>7</sub>/T<sub>7</sub> بیشترین فراوانی را در افراد سالم و بیمار (به ترتیب ۷۲/۵٪ و ۶۰٪) نشان داده است. فراوانی ژنوتیپ هموزیگوت T<sub>9</sub>/T<sub>9</sub> نیز در افراد سالم و بیمار به ترتیب ۵٪ و ۱۰٪ بوده است. در حدود ۳۰٪-۲۰٪ موارد، ژنوتیپ به صورت هتروزیگوت بوده است. از آنجایی که ژن CFTR، ژن بزرگی است و در حدود ۲۳۰kb طول دارد و حاوی ۲۷ آگرون می باشد، جهش های متعددی می تواند در آن رخ دهد که بسیاری از آنها منجر به ایجاد بیماری می شود. یکی از روش های معمول برای شناسایی حاملین احتمالی که سابقه بیماری در خانواده های آنها وجود دارد، بررسی جهش های معمول در ژن CFTR است. مهم ترین و شایع ترین جهش ΔF508 است که حدود ۷۰٪ از جهش ها را در جمعیت سفیدپوستان تشکیل می دهد اما شیوع آن از شمال غربی تا جنوب شرقی اروپا کاهش می یابد و در ایران نیز این کاهش فراوانی مشاهده می شود.<sup>۳۳</sup> حدود ۲۱-۱۶٪ جهش ها مربوط به این آلل هستند<sup>۱۹،۲۱،۲۴</sup> و در معدود مطالعات انجام شده در ایران که در برخی موارد با تعیین توالی بخش مهمی از ژن CFTR نیز همراه بوده است، بالاترین میزان شناسایی جهش ها ۸۱/۹٪ بوده است<sup>۳۳</sup> و بسیاری از جهش ها تنها یکبار گزارش شده اند. به همین دلیل غالباً تشخیص ملکولی بیماری در افراد

عمدتاً در مردان نازای مبتلا به CF انجام شده و در این مطالعات نیز آلل T7 بیشترین فراوانی را داشت.<sup>۱۸-۲۰</sup> نتایج مطالعات حاضر نشان می‌دهد که حدود ۳۰-۲۰٪ افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت می‌باشند. در نتیجه می‌توان از تکرارهای T در ردیابی آلل سالم و جهش‌یافته در تشخیص‌های قبل از تولد استفاده کرد. به‌کارگیری این مارکر به‌همراه بررسی دیگر پلی‌مورفیسم‌ها در ایران می‌تواند باعث افزایش احتمال ردیابی آلل سالم و جهش‌یافته در افرادی با سابقه بیماری در خانواده برای انجام تشخیص‌های قبل از تولد فیبروز کیستی شود.

دارای علائم بالینی فیبروز کیستی یا افراد ناقل احتمالی با استفاده از روش‌های معمول تعیین جهش دشوار و نیازمند زمان زیادی است و استفاده از فرآیند تعیین توالی نیز به‌دلیل گستردگی ژن مقرون به‌صرفه نمی‌باشد. به‌منظور دسترسی به روش‌های مناسب تشخیص پیش از تولد بیماری CF در خانواده‌های با سابقه ابتلا، از پلی‌مورفیسم تکرارهای تیمین در اینترون هشت به‌عنوان یک مارکر ملکولی در ارزیابی امکان ردیابی آلل سالم و جهش‌یافته در افراد با سابقه بیماری در خانواده، استفاده گردید. مطالعات مربوط به این پلی‌مورفیسم

## References

- Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem BS, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245(4922):1059-65.
- Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245(4922):1066-73.
- Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245(4922):1073-80.
- McCarthy VA, Harris A. The CFTR gene and regulation of its expression. *Pediatr Pulmonol* 2005;40(1):1-8.
- Zielenski J, Rozmahel R, Bozon D, Kerem B, Grzelczak Z, Riordan JR, et al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics* 1991;10(1):214-28.
- Reisin IL, Prat AG, Abraham EH, Amara JF, Gregory RJ, Ausiello DA, et al. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is a dual ATP and chloride channel. *J Biol Chem* 1994;269(32):20584-91.
- Schwiebert EM, Egan ME, Hwang TH, Fulmer SB, Allen SS, Cutting GR, et al. CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. *Cell* 1995;81(7):1063-73.
- Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, Hamrick M, Cohn JA, Rossier BC, et al. CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 1995;269(5225):847-50.
- Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman JJ. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cyst Fibros* 2002;1(1):13-29.
- Mehta A. CFTR: more than just a chloride channel. *Pediatr Pulmonol* 2005;39(4):292-8.
- Welsh MJ, Fick RB. Cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1987;80(6):1523-6.
- Kambouris M, Banjar H, Moggari I, Nazer H, Al-Hamed M, Meyer BF. Identification of novel mutations in Arabs with cystic fibrosis and their impact on the cystic fibrosis transmembrane regulator mutation detection rate in Arab populations. *Eur J Pediatr* 2000;159(5):303-9.
- Eskandarani HA. Cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations in Bahrain. *J Trop Pediatr* 2002;48(6):348-50.
- Ashavaid TF, Kondkar AA, Dherai AJ, Raghavan R, Udani SV, Udwadia ZF, et al. Application of multiplex ARMS and SSCP/HD analysis in molecular diagnosis of cystic fibrosis in Indian patients. *Mol Diagn* 2005;9(2):59-66.
- Jalalirad M, Houshmand M, Mirfakhraie R, Goharbari MH, Mirzajani F. First study of CF mutations in the CFTR gene of Iranian patients: detection of DeltaF508, G542X, W1282X, A120T, R117H, and R347H mutations. *J Trop Pediatr* 2004;50(6):359-61.
- Yilmaz E, Erdem H, Ozgüç M, Coşkun T, Özçelik U, Göçmen A, et al. Study of 12 mutations in Turkish cystic fibrosis patients. *Hum Hered* 1995;45(3):175-7.
- Niksic M, Romano M, Buratti E, Pagani F, Baralle FE. Functional analysis of cis-acting elements regulating the alternative splicing of human CFTR exon 9. *Hum Mol Genet* 1999;8(13):2339-49.
- Radpour R, Gilani MA, Gourabi H, Dizaj AV, Mollamohamadi S. Molecular analysis of the IVS8-T splice variant 5T and M470V exon 10 missense polymorphism in Iranian males with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Mol Hum Reprod* 2006;12(7):469-73.
- Ravnik-Glavac M, Dean M, Glavac D. Study of mutant and polyvariant mutant CFTR genes in patients with congenital absence of the vas deferens. *Pflugers Arch* 2000;439(3 Suppl):R53-5.
- Radpour R, Gourabi H, Gilani MA, Dizaj AV. Molecular study of (TG)<sub>m</sub>(T)<sub>n</sub> polymorphisms in Iranian males with congenital bilateral absence of the vas deferens. *J Androl* 2007;28(4):541-7.
- Akhavan Niaki H, Esmaeili Dooki MR, Ghabeli Juibary A. Common CFTR gene mutation in cystic fibrosis patients in Mazandaran province, Iran. *J Gorgan Uni Med Sci* 2008;10:38-44.
- Chehab FF, Wall J. Detection of multiple cystic fibrosis mutations by reverse dot blot hybridization: a technology for carrier screening. *Hum Genet* 1992;89(2):163-8.
- Alibakhshi R, Kianishirazi R, Cassiman JJ, Zamani M, Cuppens H. Analysis of the CFTR gene in Iranian cystic fibrosis patients: identification of eight novel mutations. *J Cyst Fibros* 2008;7(2):102-9.
- Elahi E, Khodadad A, Kupersmidt I, Ghasemi F, Alinasab B, Naghizadeh R, et al. A haplotype framework for cystic fibrosis mutations in Iran. *J Mol Diagn* 2006;8(1):119-27.

## Poly T polymorphism consideration in normal individuals and cystic fibrosis patients in Mazandaran province, Iran

### Abstract

Received: October 24, 2009 Accepted: January 23, 2010

Haleh Akhavan Niaki Ph.D.<sup>1\*</sup>  
Reza Tabaripour M.S.<sup>2</sup>  
Mohammad Reza Esmaeeli  
Douki M.D.<sup>3</sup>  
Mandana Azizi B.S.<sup>4</sup>  
Javad Tavakoli Bazzaz Ph.D.<sup>5</sup>  
Bagher Larijani M.D.<sup>6</sup>

1- Cellular and Molecular Biology  
Research Center, Babol University  
of Medical Sciences

2- Islamic Azad University, Science  
and Research Branch, Cellular and  
Molecular Biology Department,  
Tehran

3- Non-Contagious Research Center  
for Children, Babol University Of  
Medical Sciences

4- Genetic Laboratory Of Amirkola  
Children Hospital

5- Department of Genetic, Tehran  
University Of Medical Sciences

6- Endocrine Research Center,  
Tehran University Of Medical  
Sciences

**Background:** Cystic fibrosis is a monogenic recessive disorder founds predominantly in caucasian population causes exocrine glands function defect. This disease arises from mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. Because of heterogeneity of the mutations in CFTR gene, phenotypic symptoms in this disease are very variable. In this study we consider poly T polymorphism (T<sub>5</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>9</sub>) in the intron 8 of CFTR gene in normal individuals and cystic fibrosis patients in mazandaran province.

**Methods:** Forty cases of cystic fibrosis patients and 40 normal individuals were screened for poly T polymorphism in intron 8 of CFTR gene using Reverse Dot Blot method.

**Results:** T<sub>7</sub> allele is the most prevalent in normal individuals and CF patients and its abundance is approximately 75%. T<sub>9</sub> and T<sub>5</sub> represent approximately 20% and 5% of normal or mutant alleles respectively. T<sub>7</sub>/T<sub>7</sub> genotypes in normal individuals and CF patients are the most prevalent with 72.5% and 60% prevalence rate, respectively. T<sub>5</sub>/T<sub>9</sub> and T<sub>5</sub>/T<sub>5</sub> genotypes were not found. 22.5% of normal individuals and 30% of CF patients had heterozygote genotypes.

**Conclusion:** The abundance of T<sub>5</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>9</sub> alleles and the presence of 22.5-30% heterozygote genotypes in normal individuals and CF patients indicates that poly T polymorphism in intron 8 of CFTR gene can be used as a marker for detection of normal and mutant alleles in prenatal diagnosis or can be used in carrier assessment in families with previous history of the disease.

**Keywords:** Polymorphism, cystic fibrosis, reverse dot blot, CFTR.

\* Corresponding author: Ganj Afrooz  
Ave., Babol University Of Medical  
Sciences, Cellular and Molecular  
Research Center, Babol, Iran  
Tel: +98-111-2234650  
email: halehakhavan@yahoo.com